

氏名(本籍)	よつもと かつみ 四本克己(東京都)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第3226号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	Paired Activating and Inhibitory Immunoglobulin-Like Receptors, MAIR-I and MAIR-II, Regulate Mast Cell and Macrophage Activation (対になった活性化と抑制性の免疫グロブリン様受容体MAIR-IとMAIR-IIはマスト細胞とマクロファージの活性化を制御する)
主査	筑波大学教授 医学博士 住田孝之
副査	筑波大学助教授 医学博士 小島寛
副査	筑波大学助教授 博士(医学) 桜井武
副査	筑波大学講師 博士(医学) 本橋ほづみ

論文の内容の要旨

(目的)

自然免疫を担う骨髄球系細胞などの免疫担当細胞の活性化制御機構を解明するために、これらの細胞に発現する新規の活性化と抑制性の細胞膜受容体を同定し、その免疫応答における役割を明らかにすることを目的とした。

(対象と方法)

1) 骨髄球系細胞を欠損するPU.1^{fl/fl}マウスと野生株マウスを用いて representational difference analysis (RDA) 法により骨髄球系細胞に特異的に発現する cDNA を得た。これらの中から、ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) を有する MAIR-I 遺伝子を単離した。2) MAIR-I cDNA をプローブとして腹腔マクロファージ cDNA ライブラリーのスクリーニングにより、MAIR-I に相同性の高い MAIR-II 遺伝子を同定した。3) 上記2つの遺伝子に関して、その染色体座位を FISH 法により解析し、また分子生物学的および生化学的に一次、二次構造解析を行った。4) ノーザン法, サザン法, RT-PCR, および著者らが作製したモノクローナル抗体を用いたフローサイトメトリーにより発現解析を行った。5) MAIR-I を発現する骨髄由来マスト細胞を材料に MAIR-I からのシグナルの脱顆粒反応に及ぼす影響を解析した。6) MAIR-II を発現する腹腔マクロファージを用いて、MAIR-II からのシグナルのサイトカイン産生に及ぼす影響を ELISA 法により解析した。

(結果)

1) MAIR-I と MAIR-II の遺伝子座はマウス 11 番染色体に位置していた。

MAIR-I, MAIR-II は細胞外領域に互いに 90% 以上の相同性を有する一つの免疫グロブリン様ドメインをもつ I 型の膜型糖蛋白であった。しかし膜貫通部, 細胞内領域は著しく異なり, MAIR-I は抑制性シグナルを伝える ITIM 配列を含む長い細胞内領域を有するが, MAIR-II の細胞内領域は 20 アミノ酸残基と短かくシグナル伝達モチーフを持たなかった。しかし MAIR-II は活性化シグナルを伝える ITIM (immunoreceptor tyrosine-based activating motif) を有するアダプター分子 DAP12 と会合していた。2) ノーザン解析や RT-PCR から, MAIR-I と MAIR-II

は骨髄、脾臓など造血組織特異的に発現していることが明らかとなった。3) MAIR- I ,MAIR- II に特異的モノクローナル抗体を用いておこなったフローサイトメトリーによる解析の結果, MAIR- I はマクロファージ, 顆粒球, マスト細胞, 樹状細胞などの骨髄球系細胞とBリンパ球の一部に発現していたが, MAIR- II は腹腔マクロファージとBリンパ球の一部に発現がみられるのみであった。4) MAIR- I をモノクローナル抗体で架橋するとITIM配列を介してマスト細胞におけるIgE依存性脱顆粒反応を抑制した。この作用は生化学的にはITIMモチーフのリン酸化チロシンとチロシンホスファターゼのSHIP-1との会合によっておこることも示された。5) 一方MAIR- II は DAP12を介して活性化シグナルを伝える結果, 腹腔マクロファージやマクロファージ細胞株RAW264トランスフェクタントにおいて炎症性サイトカインであるTNF- α 産生を増加させた。

(考察)

MAIR- I 遺伝子座はこれまでに報告された他の抑制性レセプターが遺伝子群として存在するヒト19番染色体などと異なることから新たなファミリーを形成すると考えられた。機能的にはpaired receptorとしてMAIR- I とMAIR- II はそれぞれが, 細胞株だけでなくex vivo実験で抑制性と活性化に働くことが示され, 自然免疫応答においてin vivoでも抑制性シグナル, 活性化シグナルの伝達を担うことが示唆された。またMAIR- I とMAIR- II 両者の発現様式は, 抑制性シグナルが常に優位に働いて「恒常性維持」や「寛容」の状態を創りだしている可能性を想定させ興味深い, これらを実証するために今後リガンドの同定やジーンターゲットングによる生理的機能の解析が不可欠であると考えられる。

(結論)

MAIR- I およびMAIR- II はマクロファージやマスト細胞などの自然免疫を担う免疫担当細胞の応答においてpaired receptorとして活性化制御に関与する可能性が考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は, 自然免疫を担う免疫担当細胞の活性化および制御機構を解明することを目的として, 新たに明らかにした2つの細胞膜受容体(MAIR- I, MAIR- II)について, その構造や機能を解析した研究である。結果として, MAIR- I, ITIMモチーフを有し抑制性シグナルを伝え, MAIR- II はITAMモチーフを有し活性化シグナルを伝える受容体であった。ともに11番染色体に位置する免疫グロブリン様受容体であり, 対をして自然免疫に関与していることが予想された。

これは, 免疫担当細胞の活性化と制御の機構を解明するために価値ある研究であり, 国際的にも高く評価されている。

よって, 著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。